

鲁山冬凌草乙素和丙素的结构研究**

李继成 刘晨江

孙汉董* 林中文

(河南省医学科学研究所, 郑州)

(中国科学院昆明植物研究所)

摘要 从河南省鲁山县产冬凌草叶中分得两个新的对映-贝壳杉烯型二萜化合物, 命名为鲁山冬凌草乙素和丙素, 经光谱和化学方法证明, 它们的结构分别为 (1) 和 (2)。

关键词 鲁山冬凌草; 新二萜化合物; 鲁山冬凌草乙素和丙素

河南省鲁山县产冬凌草(*Rabdosia rubescens* Hara f. *lushanensis* Gao et Li) 在药理上有一定的抗肿瘤活性^[1]; 临床上, 对治疗食管癌有较好疗效^[2]。为了探讨其抗癌活性成分, 我们对鲁山冬凌草的化学成分进行了系统的研究。从叶的乙醚提取物中除分离到抗癌活性成分鲁山冬凌草甲素 (4) ^[3]外, 现又分离鉴定了两种新的二萜成分, 分别命名为鲁山冬凌草乙素 (lushanrubescensin B) (1) 和丙素 (lushanrubescensin C) (2)。初步药理实验表明, 乙素和丙素具有明显的细胞毒作用(另报), 本文报道其结构研究。

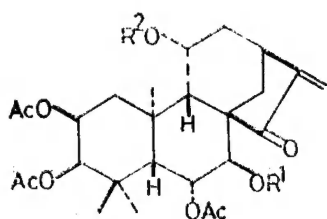
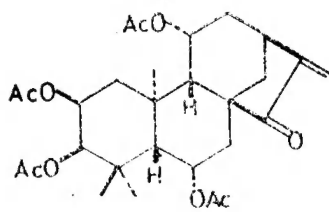
鲁山冬凌草乙素 (1) 乙醚-石油醚中得无色棱柱状结晶, mp 219—221 °C, $C_{26}H_{36}O_9$ (M^+ 492), $[\alpha]_D^{20} -90^\circ$ ($C=0.1$, MeOH); ν_{max} (KBr): 1710和1646 cm^{-1} ; 1H NMR (C_5D_5N) δ : 6.04和5.35 (各 1H, s); ^{13}C NMR (C_5D_5N) (见表 1) δ : 112.7 (t) 和150.9 (s) (环外亚甲基), 213.5 (s, 酮); 以上波谱数据提示化合物 (1) 有着典型的香茶菜属二萜化合物的对映-15-氧-16-贝壳杉烯 (ent-15-oxo-16-kaurene) 的骨架。

鲁山冬凌草乙素 (1) 具有二个仲羟基和三个仲乙酰氧基: IR 3440 (OH), 1740, 1265—1220 (OAc) cm^{-1} ; 1H NMR δ 6.60 (1H, s, OH, D_2O 交换后消失), 6.31 (1H, br. s, OH, D_2O 交换后消失), 5.68—5.40 (2H, m), 5.28 (1H, d, $J=3$ Hz), 4.42 (1H, m) 和4.06 (1H, d, $J=4$ Hz); ^{13}C NMR δ 77.7 (d), 73.6 (d), 71.4 (d), 67.8 (d) 和64.9 (d)。在质谱中由B环断裂^[4]而生成的碎片峰 m/z 252 ($C_{13}H_{16}O_5$) 和240 ($C_{13}H_{20}O_4$) 的数据表明两个乙酰氧基位于A环上, 另外一个乙酰氧基和两个仲羟基位于B、C环上。将 (1) 和鲁山冬凌草甲素 (4) ^[3]的 1H 和 ^{13}C NMR 数据仔细比较后可见, 二者在结构上是极其近

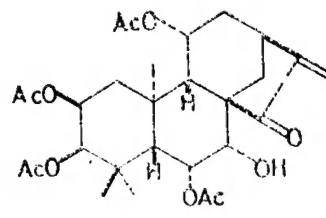
本文于1985年8月14日收到。

* 通讯联系人。 ** 安新宗同志参加部分工作。

似的化合物, 即 (1) 的三个乙酰氧基分别位于 2- β , 3- β 和 6- α 位; 两个仲羟基分别位于 7- β 和 11- α 位。(4) 的 11-C (δ 68.2), 9-C (δ 54.9) 和 12-C (δ 37.3) 在 (1) 中分别高场和低场位移至 11-C (δ 64.9), 9-C (δ 59.1) 和 12-C (δ 38.0); 在 ^1H NMR 中, (1) 的 11- βH 由 (4) 中的 δ 5.37 (m) 高场位移至 δ 4.42, 以上表明鲁山冬凌草乙素的一个仲羟基应位于 11 α 位。另外, (1) 的 5-C (δ 42.1) 较 (4) 的 5-C (δ 48.7) 高场位移了 6.6 ppm, (1) 中 B 环其它各碳的化学位移均与 (4) 的相一致, 这清楚表明另一个仲羟基应位于 7 β 位。这是由于 7- β OH 的 γ -立体效应的影响才使得 (1) 的 5-C 向高场位移至 δ 42.1。将 (1) 用醋酐-吡啶常法乙酰化生成五乙酰化物 (3)。为此, 我们提议鲁山冬凌草乙素 (lushanrubsecensin B) 的结构应以 (1) 式来表示。

(1) $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ (3) $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{Ac}$ 

(2)



(4)

鲁山冬凌草丙素 (2) 甲醇中得无色棱晶 mp 190—192°C, $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_6$ (M^+ 518), $[\alpha]_D^{19} - 50^\circ$ ($\text{C} = 0.1$, MeOH)。 λ_{max} (EtOH): 235 nm (ϵ 8290); ν_{max} (KBr): 1720 和 1645 cm^{-1} ; ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.06 和 5.30 (各 1H, s); ^{13}C NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (见表 1) δ : 113.2 (t) 和 149.8 (s) (环外亚甲基), 207.4 (s, 酮)。以上波谱数据表明化合物 (2) 依然具有对映-15-氧-16-贝壳杉烯的骨架。

(2) 具有四个乙酰氧基取代官能团: IR 1750—1720, 1250—1218 cm^{-1} ; ^1H NMR δ 2.13, 2.04, 1.99 和 1.83 (各 3H, s); ^{13}C NMR δ 77.5 (d), 68.3 (d), 68.3 (d), 67.5 (d)。根据 (2) 的分子式其不饱和度为 10, 四个乙酰氧基的不饱和度为 4, 加上一个末端双键和一个酮基的各 1 个不饱和度, 这样还剩下恰好构成 ent-kaurene 四环骨架的 4 个不饱和度。另外, 由 ^1H NMR 中显示 δ 1.53, 1.16 和 1.01 (各 3H, s) 三个季甲基的事实也说明化合物 (2) 是仅具有四个乙酰氧基的对映-贝壳杉烯型化合物。因此剩下的就是这四个乙酰氧基的取代位置问题。从 ^1H NMR 中于 δ 5.68—5.39 (4H, m) 的信号难以判别这四个取代基的位置, 但由 (2) 的质谱 (CI-MS) 中 m/z 279 ($\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{O}_5$) (基峰) 和 241 ($\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{O}_4$) 的碎片峰^[4]表明, 其中二个乙酰氧基位于 A 环上, 另外二个乙酰氧基位于 B、C 环上。由 (2) 的 ^{13}C NMR δ 68.3 (d, $2 \times \text{C}$) 和 67.5 (d) 的数据提示其中三个乙酰氧基应分别位于 2-C, 6-C 和 11-C 上^[3]。另一方面, 根据 18-C [δ 27.9 (q)] 和 5-C [δ 48.7 (d)] 的高场化学位移值表明余下的一个乙酰氧基 [δ 77.5 (d)] 应

位于 3- β 位。(2) 的 19-C [δ 22.7 (q)] 和 20-C [δ 20.0 (q)] 的化学位移值与 (4) [3] 的极其一致揭示化合物 (2) 的 2-OAc 应是 β 取向, 6-OAc 应是 α 取向。如果 2-OAc 位于 α 位的话, 19-C 和 20-C 将移向更低场; 另外如果 6-OAc 位于 β 位的话, 18-C 的化学位移也将处于更低场, 事实上 (2) 的以上各个碳的 δ 值与化合物 (4) 的相一致表明: 化合物 (2) 的三个乙酰氧基应分别位于 2- β , 3- β 和 6- α 位。根据 (2) 的 20-C [δ 20.0 (q)] 低场化学位移值, 11-OAc 如甲素 (4) 一样仍位于 α 位。因为如果 (2) 的 11-OAc 位于 β 位的话, 20-CH₃ 仅受到 α - α OAc 的去屏蔽效应, 那么要具有如此低场的化学位移值 (δ 20.0 ppm) 是不可能的。综上分析, 我们推定鲁山冬凌草丙素应以 (2) 式表示。

表 1 鲁山冬凌草乙素 (1) 和丙素 (2) 的 ^{13}C NMR 化学位移值
Table 1. ^{13}C NMR chemical shifts of lushanrubescensin B (1) and C (2)

碳原子 carbon	化合物 compounds		碳原子 carbon	化合物 compounds		碳原子 carbon	化合物 compounds	
atoms	(1)	(2)	atoms	(1)	(2)	atoms	(1)	(2)
1-C	43.7(t)	40.5(t)	11-C	64.9(d)	63.3(d)		170.4(s)	170.5(s)
2-C	67.8(d)	67.5(d)	12-C	38.0(t)	37.2(t)		170.1(s)	170.2(s)
3-C	77.7(d)	77.5(d)	13-C	41.2(d)	38.6(d)	OAc	169.8(s)	169.6(s)
4-C	38.2(s)	38.3(s)	14-C	35.2(t)	37.2(t)		21.2(q)	169.0(s)
5-C	42.1(d)	48.7(d)	15-C	213.5(s)	207.4(s)		20.9(q)	21.4(q)
6-C	71.4(d)	68.3(d)	16-C	150.9(s)	149.8(s)		20.6(q)	21.1(q)
7-C	73.6(d)	40.0(t)	17-C	112.7(t)	113.2(t)			20.9(q)
8-C	49.8(s)	43.9(s)	18-C	27.9(q)	27.9(q)			20.5(q)
9-C	59.1(d)	59.1(d)	19-C	23.2(q)	22.7(q)			
10-C	39.4(s)	37.9(s)	20-C	20.6(q)	20.0(q)			

实 验 部 分

熔点用 MP-21 型仪测定 (未校正); IR-450 型分光光度计测定红外光谱; UV-210 A 型仪测定紫外光谱; MS 用 Finnigan-4510 型波谱仪测定; ^1H 和 ^{13}C NMR 用 Bruker WH-90 型波谱仪测定; 旋光用 WZZ-1 自动旋光仪测定。

1.5 公斤鲁山冬凌草干叶乙醚冷浸 21 天, 回收乙醚得提取物 80 克, 甲醇溶解后活性炭脱色, 回收溶剂得粘稠状物 27 克, 然后用硅胶柱层分离。以二氯甲烷-丙酮混合溶剂进行梯度洗脱, 依次得到 (1) 0.67 克 (收率 0.045%), (2) 0.2806 克 (收率

0.019%)。

1. 鲁山冬凌草乙素(1) 无色棱柱状结晶(乙醚-石油醚中结晶)mp 219—221°C, $[\alpha]_D^{25} -90^\circ$ (C=0.1, MeOH); IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3440, 1740, 1710, 1646, 1265—1220, ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.60 (1H, s, 7- α OH, D_2O 交换后消失), 6.31 (1H, br.s, 11- α OH, D_2O 交换消失), 6.04和5.35 (各1H, s, 17- H_2), 5.68—5.40 (2H, m, 2- α 和 6- β H), 5.28 (1H, d, $J=3$ Hz, 3- α H), 4.42 (1H, m, 11- β H), 4.06 (1H, d, $J=4$ Hz, 7- β H), 3.08 (1H, m, 13- α H), 2.13, 2.00和1.98 (各3H, s, $3 \times \text{OAc}$), 1.53 (3H, s, 20- CH_3), 1.14 (3H, s, 18- CH_3), 1.08 (3H, s, 19- CH_3)。MS (EI, 70 eV) m/z : 492 (M^+), 432 ($\text{M}^+ - \text{AcOH}$), 372 ($\text{M}^+ - 2 \text{AcOH}$), 312 ($\text{M}^+ - 3 \times \text{AcOH}$), 297 ($\text{M}^+ - 3 \times \text{AcOH} - \text{CH}_3$), 279 (297- H_2O), 252, 240。 ^{13}C NMR数据见表1。

2. 乙酰化物(3) 20毫克(1)加入1毫升1:1的醋酐-吡啶溶液, 室温搅拌下乙酰化24小时, 常法处理, 得残留物用三氯甲烷溶解, 进行氧化铝柱层析分离, 分得乙酰化物用甲醇结晶得细针晶(3), mp 178—179°C。IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1750—1725, 1640, 1245—1210。MS (EI, 20 eV) m/z : 516 ($\text{M}^+ - \text{AcOH}$), 474 ($\text{M}^+ - \text{AcOH} - \text{ketene}$), 456 ($\text{M}^+ - 2 \times \text{AcOH}$), 414 ($\text{M}^+ - 2 \times \text{AcOH} - \text{ketene}$), 396 ($\text{M}^+ - 3 \times \text{AcOH}$), 354 (396-ketene), 336 ($\text{M}^+ - 4 \times \text{AcOH}$), 294 ($\text{M}^+ - 4 \times \text{AcOH} - \text{ketene}$) (基峰), 276 ($\text{M}^+ - 5 \times \text{AcOH}$)。

3. 鲁山冬凌草丙素(2) 甲醇中得无色棱晶, mp 190—192°C, $[\alpha]_D^{25} -50^\circ$ (C=0.1, MeOH)。UV λ_{max} (EtOH) nm: 235 (ϵ 8290)。IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 1750—1720, 1645, 1250—1218。 ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.06和5.30 (各1H, s, 17- H_2), 5.68—5.39 (4H, m, 2- α , 3- α , 6- β 和 11- β H), 2.13, 2.04, 1.99和1.83 (各3H, s, $4 \times \text{OAc}$), 1.53 (3H, s, 20- CH_3), 1.16 (3H, s, 18- CH_3), 1.01 (3H, s, 19- CH_3)。MS (CI, 70 eV) m/z : 519 [$\text{M}+1$] $^+$, 459[($\text{M}+1$) $^+ - \text{AcOH}$], 399[($\text{M}+1$) $^+ - 2 \times \text{AcOH}$], 339[($\text{M}+1$) $^+ - 3 \times \text{AcOH}$], 297 (339-ketene), 279[($\text{M}+1$) $^+ - 4 \times \text{AcOH}$] (基峰)。 ^{13}C NMR数据见表1。

致谢: 本研究得到周俊副研究员和张覃沐副教授的关怀, 河南省生物所高增义副研究员鉴定植物标本, 昆明植物研究所物理分析仪器组进行各项光谱测定, 在此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] 王庆瑞、王锦英、叶启霞、华海晏、刘梅筠、张覃沐: 待发表。
- [2] 鲁山县人民医院: 待发表。
- [3] 秦崇秋、刘晨江、李继成、安新宗、孙汉董、林中文, 1984: 云南植物研究 6 (3): 333。
- [4] Kubo, I., T. kamikawa, T. Isobe and T. kubota, 1974: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 47:1277.

STRUCTURES OF LUSHANRUBESCENSIN B AND C. NEW DITERPENOIDS FROM RABDOSIA RUBESCENS F. LUSHANENSIS

Li Jicheng, Liu Chenjiang

(Henan Medical Institute, Zhengzhou)

Sun Handong* and Lin Zhongwen

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica)

Abstract During the course of our studies on the biologically active constituents of *Rabdosia* plants, we examined the ether extract of the leaves of *Rabdosia rubescens* Hara f. *lushanensis* Gao et Li collected in Lushan, Henan. Two new diterpenoids, lushanrubescensin B (1) and C (2) were isolated together with known diterpenoid, lushanrubescensin A. On the basis of spectroscopic and chemical evidence, the structures of (1) and (2) were established as ent-7 α , 11 β -dihydroxy-2 α , 3 α , 6 β -triacetox-16-kauren-15-one and ent-2 α , 3 α , 6 β , 11 β -tetraacetox-16-kauren-15-one, respectively.

Based on the preliminary antineoplastic activity test, (1) and (2) show a significant cytotoxicity against Ehrlich carcinoma cells *in vitro*.

Key words *Rabdosia rubescens* f. *lushanensis*; New diterpenoids; lushanrubescensin B and C